

(12) **FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO**

(51) Classificação Internacional:

C08L 5/08 (2015.01) **A61K 47/36** (2015.01)

A61K 9/10 (2015.01) **A61L 27/44** (2015.01)

C08J 3/75 (2015.01) **A61L 27/20** (2015.01)

A61L 27/52 (2015.01)

(22) Data de pedido: 2011.08.26	(73) Titular(es): OLIGO MEDIC INC. 2903 RUE FENDALL MONTRÉAL, QUÉBEC H3T 1N2 CA
(30) Prioridade(s): 2010.08.27 US 377592 P 2011.02.18 US 201161444646 P	(72) Inventor(es): AMINE SELMANI CA ABDELLATIF CHENITE CA
(43) Data de publicação do pedido: 2013.07.03	(74) Mandatário: ALBERTO HERMÍNIO MANIQUE CANELAS RUA VÍCTOR CORDON, 14 1249-103 LISBOA PT
(45) Data e BPI da concessão: 2015.08.12 228/2015	

(54) Epígrafe: **COMPOSIÇÕES DE QUITOSANO/SAL DE GLUCOSAMINA TERMOGELIFICANTES DUPLAS ALTAMENTE BIOCAMPATÍVEIS**

(57) Resumo:

A PRESENTE DESCRIÇÃO REFERE-SE A UMA SOLUÇÃO DE QUITOSANO NEUTRALIZADA COM UMA SOLUÇÃO TAMPÃO DE CARBONATO DE AMINO-AÇÚCAR OU SOLUÇÃO TAMPÃO DE FOSFATO DE AMINO-AÇÚCAR OU SOLUÇÃO TAMPÃO DE AMINO-AÇÚCAR FOSFORILADO. A COMPOSIÇÃO DE QUITOSANO TERMOGELIFICANTE RESULTANTE É ALTAMENTE BIOCAMPATÍVEL, ISOTÓNICA E TEM APTIDÃO PARA SE TORNAR RAPIDAMENTE EM GEL POR AQUECIMENTO À TEMPERATURA CORPORAL. É PROPORCIONADA UMA NOVA COMPOSIÇÃO À BASE DE QUITOSANO ADEQUADA PARA A ADMINISTRAÇÃO DE FÁRMACOS, ADMINISTRAÇÃO DE CÉLULAS E REPARAÇÃO OU REGENERAÇÃO DE TECIDOS E ÓRGÃOS, BEM COMO OUTROS TRATAMENTOS CLÍNICOS.

RESUMO**"COMPOSIÇÕES DE QUITOSANO/SAL DE GLUCOSAMINA
TERMOGELIFICANTES DUPLAS ALTAMENTE BIOCOMPATÍVEIS"**

A presente descrição refere-se a uma solução de quitosano neutralizada com uma solução tampão de carbonato de amino-açúcar ou solução tampão de fosfato de amino-açúcar ou solução tampão de amino-açúcar fosforilado. A composição de quitosano termogelificante resultante é altamente biocompatível, isotónica e tem aptidão para se tornar rapidamente em gel por aquecimento à temperatura corporal. É proporcionada uma nova composição à base de quitosano adequada para a administração de fármacos, administração de células e reparação ou regeneração de tecidos e órgãos, bem como outros tratamentos clínicos.

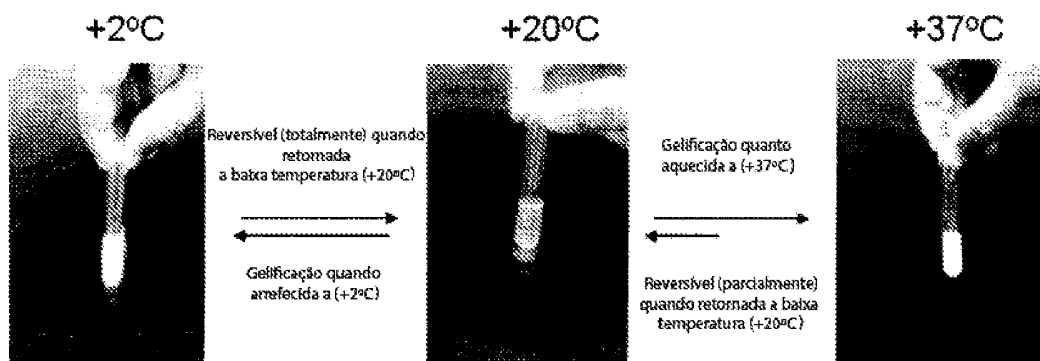


Figura 2

DESCRIÇÃO

"COMPOSIÇÕES DE QUITOSANO/SAL DE GLUCOSAMINA TERMOGELIFICANTES DUPLAS ALTAMENTE BIOCAMPATÍVEIS"

CAMPO TÉCNICO

A presente descrição refere-se uma solução de quitosano neutralizada com solução tampão de carbonato de amino-açúcar, solução tampão de fosfato de amino-açúcar ou uma solução tampão de amino-açúcar fosforilado.

ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

Os hidrogéis estão continuamente a ganhar cada vez mais atenção como biomateriais para aplicações biomédicas, como engenharia de tecidos e administração terapêutica. Além disso, hidrogéis que se formam *in situ* ou os que apresentam a aptidão específica de aumentar a sua viscosidade com a temperatura, também chamados termossensíveis, são preferidos em relação a hidrogéis pré-formados, uma vez que as células e os compostos bioactivos, como fármacos, podem ser facilmente misturados com as soluções de precursor antes da gelificação para dar geles carregados homoganeamente. Além disso, a gelificação *in situ* facilita a aplicação e permite cirurgia minimamente

invasiva e o preenchimento adequado de cavidades de lesões com formas complexas.

O quitosano é um amino polissacárido obtido por N-desacetilação alcalina parcial a substancial da quitina, também chamada poli(N-acetil-D-glucosamina), que é um biopolímero de ocorrência natural encontrado no exoesqueleto de crustáceos, como cascas de camarão, caranguejo e lagosta. O quitosano contém grupos amina livres ($-NH_2$) e pode ser caracterizado pela proporção de unidades de N-acetil-D-glucosamina e unidades de D-glucosamina, que é expressa como o grau de desacetilação (DDA) do polímero quitina totalmente acetilado. As propriedades do quitosano, como a solubilidade e a viscosidade, são influenciadas pelo grau de desacetilação (DDA), que representa a percentagem de monómeros desacetilados, e o peso molecular (Mw).

O quitosano foi proposto em várias formulações, por si só e com outros componentes, para estimular a reparação de tecidos dérmicos, corneanos e rígidos em vários relatórios (patentes U.S. n°s 4572906; 4956350; 5894070; 5902798; 6124273; e WO 98/22114). As propriedades do quitosano que são mais vulgarmente citadas como vantajosas para o processo de reparação de feridas são a sua biodegradabilidade, adesividade, prevenção da desidratação e como uma barreira à invasão bacteriana. O potencial hemostático interessante do quitosano também levou à sua aplicação directa para reduzir a hemorragia em enxertos e sítios de feridas (patente U.S. 4532134). Alguns

estudos reivindicam que a actividade hemostática do quitosano provém unicamente da sua aptidão para aglutinar glóbulos vermelhos do sangue, enquanto outros acreditam que o seu carácter de amina policatiónica pode activar as plaquetas para libertar trombina e iniciar a cascata de coagulação clássica conduzindo assim à sua utilização como um hemostático em associação com fibrinogénio e plaquetas autólogas purificadas (patente U.S. 5773033).

Uma dificuldade técnica que o quitosano frequentemente apresenta é uma baixa solubilidade ao pH e força iónica fisiológicos, limitando assim a sua utilização num estado de solução. Assim, tipicamente, a dissolução do quitosano é conseguida através da protonação de grupos amina em soluções aquosas ácidas tendo um pH na gama de 3,0 a 5,6. Essas soluções de quitosano permanecem solúveis até um pH próximo de 6,2 em que a neutralização dos grupos amina reduz a repulsão electrostática intercadeias e permite que forças de atracção de ligação de hidrogénio, interacções hidrófobas e de van der Waals causem a precipitação do polímero a um pH próximo de 6,3 a 6,4. A mistura íntima de um sal dibásico de fosfato de polioliol (*i.e.* fosfato de glicerol) com uma solução aquosa de quitosano pode aumentar o pH da solução, evitando simultaneamente a precipitação. Na presença destes sais específicos, as soluções de quitosano de concentração substancial (0,5-3%) e alto peso molecular (> várias centenas de kDa) permanecem líquidas, a temperatura baixa ou à temperatura ambiente, durante um período de tempo

longo com um pH numa região neutra fisiologicamente aceitável entre 6,8 e 7,2. Este aspecto facilita a mistura do quitosano com células de uma forma que mantém a sua viabilidade. Uma propriedade adicional importante é que essas soluções aquosas de quitosano/fosfato de poliols (C/PP) solidificam ou gelificam quando aquecidas a uma temperatura apropriada que permite que as soluções de mistura de quitosano/células sejam injectadas em sítios do corpo em que por exemplo nódulos de cartilagem podem ser formados em espaços subcutâneos.

O quitosano é assim reconhecido como um biopolímero biodegradável, biocompatível, antibacteriano e hemostático que é capaz de promover a cicatrização de feridas, a absorção de fármacos e a reconstrução de tecidos. Devido às propriedades intrínsecas mencionadas acima, o quitosano também tem sido amplamente explorado em numerosas aplicações cosméticas e farmacêuticas. Portanto, considerando o grande potencial do quitosano, existe uma necessidade contínua de melhorar as propriedades de hidrogéis de quitosano termossensíveis conhecidos que ainda são considerados como muito promissores para uma gama mais ampla de aplicações biomédicas.

A patente U.S. N° 6344488 descreve uma composição de quitosano dependente do pH controlada pela temperatura preparada por neutralização de um quitosano comercial tendo um grau de desacetilação de 70 a 95% com sais dibásicos mono-fosfato de polióis ou açúcares, polióis fosforilados

ou açúcares fosforilados, exemplificados em particular com β -glicerofosfato (β -GP). Devido às suas propriedades únicas, o sistema de quitosano-GP termogelificante tem despertado interesse biomédico significativo. No entanto, era necessária concentração alta de β -GP, particularmente para quitosano tendo DDA entre 70 e 85%, de modo a se obter uma gelificação rápida à temperatura corporal e evitar a eliminação rápida do hidrogel após a sua administração (Chenite *et al.*, 2000, *Biomateriais*, 21:2155-2161; e Chenite *et al.*, 2001, *Carbohydrate Polymers*, 46:39-47). Isto resultou em osmolaridade muito alta, mais do que o dobro da do fluido fisiológico extracelular (Crompton *et al.*, 2007, *Biomaterials*, 28:441-449; e Hoemann *et al.*, 2005, *Osteoarthritis Cartilage*, 13:318-329). Idealmente, o hidrogel deve ser isotónico com o fluido extracelular; e a sua osmolaridade deve ser em torno de 300 mOsm. A osmolaridade é um factor muito importante que regula a biocompatibilidade do hidrogel com células *in vitro* ou *in vivo*.

Além disso, numa tentativa de melhorar as propriedades de gelificação do sistema de quitosano-GP, particularmente para composições isotónicas, a publicação do pedido de patente US N° 2009/0202430 propôs a adição de glioxal como agente reticulante químico. Noutra descrição, uma composição específica do sistema de quitosano-GP foi combinada com sangue na tentativa de melhorar e estabilizar a formação de coágulos de sangue (patente U.S. N° 7148209 e publicação do pedido de patente U.S. N° 2010/0178355).

Os pedidos de patente U.S. N°s 2009/0270514 e 2010/0113618 descreveram a preparação de soluções de quitosano termogelificantes por utilização, em vez de β -GP, de solução de $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ ou de solução de NaOH, respectivamente. No entanto, a utilização de sais fosfato de amónio ou todos os sais derivados de bases orgânicas como descrito no pedido de patente U.S. N° 2009/0270514 pode ser prejudicial ou lesivo para células e tecidos vivos, mesmo se estiverem numa concentração que normalmente conduz à soluções de quitosano termogelificantes isotónicas. O pedido de patente U.S. N° 2010/0113618 foi restringido a quitosano reacetilado tendo um grau de desacetilação (DDA) variando de 30 a 60%. Além disso, a solução de NaOH é adicionada previamente alta concentração de 1,3-propanodiol, um reagente orgânico que pode ser potencialmente tóxico para células e tecidos vivos. Apesar do ligeiro melhoramento proporcionado pela utilização de polioses ou polióis em vez de 1,3-propanodiol, como descrito no pedido de patente U.S. N° 2009/0004230, o problema de toxicidade ficou por resolver, pelo que o sistema não ser pode ser uma matriz adequada para células, proteínas sensíveis ou tecidos vivos. Finalmente, o WO02/00272 A2 mostra que a glucosamina pode ser adicionada a GP de modo a se obter uma composição de quitosano isotónica termogelificante com um pH de 6,8 como desejado.

Também é bem conhecido que uma solução de sal bicarbonato como NaHCO_3 , uma base fraca, pode ser utilizada

para aumentar o pH da solução de quitosano na vizinhança de 6,5 sem causar qualquer precipitação, mas a solução resultante é incapaz de se transformar em hidrogel homogéneo na gama de temperaturas entre 0 e 50°C. De facto, pode ser observada uma pseudo-gelificação, que ocorre na superfície da solução causada pela libertação de CO₂, como descrito num estudo recente (Liu *et al.*, 2011, *Int. J. Pharm.*, 414:6-15). Nesse caso, para atingir a gelificação de toda a amostra, é necessário perturbar a solução e levar a solução não gelificada à superfície desde o fundo da amostra. Isto leva a um hidrogel não homogéneo.

Assim, há ainda necessidade de dispor de um quitosano termogelificante melhorado.

SUMÁRIO

De acordo com a presente descrição é agora proporcionada uma composição termogelificante biocompatível compreendendo quitosano e uma solução tampão como definido nas reivindicações.

Numa forma de realização, a composição é líquida a um pH entre 6,5 e 7,6 e a uma temperatura entre cerca de 15°C e cerca de 22°C, e forma um gel quando aquecida até uma gama de temperaturas entre cerca de 25 e cerca de 60°C.

A composição aqui descrita também pode formar geles quando arrefecida até uma temperatura entre cerca de 8°C e cerca de 1°C, uma temperatura de cerca de 4°C.

É também aqui proporcionado um método de preparação de uma composição de quitosano termogelificante, compreendendo os passos de dissolução de quitosano numa solução ácida para se obter uma solução aquosa de quitosano; e de mistura íntima de uma solução tampão com a solução aquosa de quitosano, para se obter a composição de quitosano termogelificante como aqui descrito.

Numa forma de realização, a temperatura é mantida entre 15°C e 22°C (gama da temperatura ambiente) durante a preparação.

De acordo com a presente descrição, é também proporcionado um método para administração de um material ou composto a um indivíduo dele necessitado, compreendendo os passos de mistura íntima da composição termogelificante aqui descrita com o material ou composto; e administração da composição em mistura com o material e/ou composto ao indivíduo.

Também é proporcionado um método de tratamento, reparação, regeneração, reconstituição ou substituição de um tecido ou órgão no seio do corpo de um mamífero ou ser humano, compreendendo o passo de administrar a composição aqui descrita.

Também é proporcionada a utilização da composição aqui descrita para o tratamento, reparação, regeneração,

reconstituição ou substituição de um tecido ou órgão no seio do corpo de um mamífero ou ser humano.

A solução tampão é uma solução de carbonato de amino-açúcar, uma solução de fosfato de amino-açúcar ou uma solução de amino-açúcar fosforilado.

Noutra forma de realização, a solução tampão é uma solução de carbonato de glucosamina, uma solução de fosfato de glucosamina ou uma solução de glucosamina-6-fosfato.

A composição termogelificante aqui descrita pode ter um pH entre 6,7 e 7,2.

Noutra forma de realização, a composição termogelificante está num estado líquido a uma temperatura entre 15°C e 22°C.

Noutra forma de realização, a composição termogelificante transforma-se em gel quando aquecida até uma temperatura de 37°C ou arrefecida até uma temperatura de cerca de 4°C.

A concentração de quitosano pode variar de 0,1% a 5,0% ou de 1,0% a cerca de 3,0%; a concentração de carbonato de glucosamina, fosfato de glucosamina ou glucosamina-6-fosfato pode variar desde 0,002 M a 0,100 M.

Numa forma de realização preferida, a proporção de quitosano para carbonato de glucosamina, de quitosano para fosfato de glucosamina e/ou a proporção de quitosano para glucosamina-6-fosfato está aproximadamente entre 1 e 3. Existe uma relação directa entre esta proporção e o pH da composição termogelificante e as temperaturas de gelificação.

Noutra forma de realização, o quitosano tem um grau de desacetilação (DDA) na gama entre 70% e 100% e um peso molecular (Mw) na gama de 50 kDa a 1000 kDa; preferencialmente um DDA de 80% a 99%, e um Mw de 200 kDa a 500 kDa.

Noutra forma de realização, a composição termogelificante pode ainda compreender pelo menos um material ou composto, como por exemplo, mas não limitado a células, células estaminais, péptidos, factores de crescimento, sangue humano, plasma rico em plaquetas, nucleotidos, fármacos e/ou agentes de imagiologia.

Noutra forma de realização, a osmolaridade da referida composição está entre 270 mOsmol/kg e 340 mOsmol/kg.

Noutra forma de realização, a composição é injectada num defeito do tecido num doente, depois gelificada no defeito do tecido.

Numa forma de realização alternativa, a composição é pré-gelificada antes de ser injectada num defeito de tecido num doente.

Noutra forma de realização, a composição é administrada de modo a tratar, reparar, regenerar, reconstituir ou substituir, total ou parcialmente, um tecido ou órgão dentro do corpo de um mamífero ou ser humano.

Noutra forma de realização, a composição é injectada intra-articularmente para tratar ou melhorar funções articulares corporais, ou para reparar defeitos de cartilagem.

Noutra forma de realização, o material ou composto é partículas de fosfato de cálcio numa concentração compreendendo entre 1,0% e 40,0%.

As partículas de fosfato de cálcio podem ser fosfato de cálcio bifásicos, fosfatos tetra-cálcicos, fosfatos tri-cálcicos, hidroxiapatite, fosfatos di-cálcicos, fosfatos mono-cálcicos, fosfatos de cálcio amorfos, fosfato octa-cálcico, fosfato de cálcio fluorado, fosfato de cálcio estronciado ou uma sua mistura.

Particularmente, as partículas de fosfato de cálcio bifásico têm tamanhos de 50 a 1000 micrometros.

Mais particularmente, os fosfatos de cálcio bifásicos compreendem de 20% a 85% de fosfato tri-cálcico e de 80% a 15% de hidroxiapatite.

Noutra forma de realização, a composição é injectada e administrada como um gel homogéneo.

Particularmente, o gel homogéneo tem um tempo de estabilização de 1 minuto a 30 minutos, e transforma-se numa estrutura sólida compósita.

BREVE DESCRIÇÃO DOS DESENHOS

Tendo assim descrito genericamente a natureza da invenção, vai agora feita referência aos desenhos anexos.

A Fig. 1 ilustra a evolução do módulo elástico e do módulo viscoso com a temperatura de uma composição termogelificante tendo um valor de pH de cerca de 6,7 (DAA do quitosano = 98%) como aqui descrito.

A Fig. 2 mostra uma composição termogelificante como aqui descrito que sofre termogelificação dupla. Esta imagem típica ilustra a termogelificação dupla obtida para solução de quitosano (DDA = 80% ou 98%) neutralizada com solução tampão de carbonato glucosamina ou com solução tampão de fosfato de glucosamina.

DESCRIÇÃO PORMENORIZADA

É proporcionada uma solução aquosa de quitosano neutralizada com solução tampão de carbonato de amino-açúcar, com solução tampão de fosfato de amino-açúcar ou com solução tampão de amino-açúcar fosforilado. A composição de quitosano termogelificante resultante é altamente biocompatível, isotónica e tem a aptidão para se transformar rapidamente em gel por aquecimento à temperatura corporal. Numa forma de realização preferida, a solução de quitosano é neutralizada com uma solução tampão de carbonato de amino-açúcar, com uma solução tampão de fosfato de glucosamina ou com uma solução tampão glucosamina-6-fosfato dibásico.

A presente descrição descreve a preparação de hidrogéis de quitosano termogelificantes neutralizados com uma solução tampão de carbonato de glucosamina, fosfato de glucosamina e/ou glucosamina-6-fosfato. O carbonato de glucosamina e os fosfatos de glucosamina são sais em que o catião não é outro senão a glucosamina carregada positivamente, que é a unidade de repetição no próprio quitosano. A glucosamina ou o glucosamina-6-fosfato são abundantemente encontrados no tecido e articulações humanos, e melhoram a biocompatibilidade e bioactividade das soluções de quitosano termogelificantes.

As soluções de quitosano termogelificantes aqui descritas são neutros e altamente biocompatíveis e podem

ser utilizadas numa grande variedade de aplicações biomédicas como hidrogéis injectáveis para administração controlada e prolongada de fármacos, proteínas e factores de crescimento, agentes de enchimento injectáveis, compositos injectáveis, como adesivo de tecidos e materiais para tratamento de feridas e como estruturas para aplicações de engenharia de tecidos.

Descreve-se aqui a preparação de uma solução de quitosano, tendo um pH fisiológico, capaz de sofrer termogelificação por aquecimento até próximo da temperatura corporal. Num aspecto, a solução de quitosano termogelificante ou termoendurecível é preparada por mistura íntima de quantidades apropriadas de solução de carbonato de glucosamina ou de solução de fosfato de glucosamina com a solução de quitosano à temperatura ambiente, Verificou-se que as soluções resultantes, mesmo a um pH entre 6,7 e 7,2, permanecem no estado líquido à temperatura ambiente e transformam-se em hidrogéis quando aquecidas a 37°C ou acima. Verificou-se que o tempo necessário para ocorrer a gelificação depende principalmente da temperatura e o pH da solução final, que por sua vez dependem da quantidade de solução de hidrogeno fosfato de glucosamina chamado "solução tampão" e da concentração da solução de quitosano. Num aspecto, o pH final de uma solução de quitosano termogelificante eficiente deve ser de pelo menos cerca de 6,7. Numa forma de realização separada, as soluções de quitosano termogelificantes também podem formar hidrogéis por arrefecimento a uma temperatura entre 8 e 1°C.

A composição de quitosano termogelificante aqui descrita é altamente biocompatível com células, proteínas sensíveis e tecidos vivos, uma vez que o carbonato de glucosamina ou fosfato de glucosamina, são utilizados como as soluções tampão, sendo conservadas as virtudes da glucosamina. A glucosamina é um amino-açúcar sintetizado naturalmente a partir de glicose e glutamina, um aminoácido. É abundante nas articulações humanas onde é um precursor chave para a síntese bioquímica de vários compostos incluindo glicolípidos, glicoproteínas, glicosaminoglicanos, hialuronato e proteoglicanos. Todos esses compostos estão presentes na cartilagem e outros componentes das articulações onde desempenham papéis importantes para a resiliência e lubrificação das articulações.

Com a idade, o corpo gradualmente perde a sua aptidão para converter glicose e glutamina em glucosamina, devido aos níveis mais baixos da enzima de conversão glucosamina sintetase. Esta diminuição gradual tem sido sugerida como sendo um dos principais factores que contribuem para as doenças degenerativas das articulações como a osteoartrite (OA). Estudos de grupos clínicos e reivindicações pelos doentes suportam o facto de que um suplemento diário de glucosamina ao longo de um período de tempo pode ter efeitos vantajosos para doentes com OA. Aparentemente, a glucosamina pode actuar para melhorar a resiliência da cartilagem por estimulação *in vivo* da biossíntese de glucosaminoglicano.

O exoesqueleto de crustáceos, como cascas de camarão, caranguejo e lagosta, são normalmente a fonte comercial de glucosamina, o qual é obtida pela decomposição ou degradação do quitosano à unidade de monómero.

Os estudos clínicos e reivindicações pelos doentes suportam o facto de um suplemento diário de glucosamina ao longo de um período de tempo poder ter efeitos vantajosos para doentes com OA. Do ponto de vista da segurança, os estudos humanos têm descrito consistentemente que a administração de glucosamina não afectou os níveis plasmáticos de glucose ou insulina, sensibilidade à insulina ou oxidação da glucose (Scroggie *et al.*, 2003, *Archives of Internal Medicine*, 163:1587-1590; Pouwels *et al.*, 2001, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 86:2099- 2103; e Monauni *et al.*, 2000, *Diabetes*, 49:926-935). Isto indica que a glucosamina não teve nenhum efeito significativo no metabolismo da glucose no sangue mesmo em doentes com *diabetes mellitus* de tipo 2.

Anderson e colaboradores fizeram a revisão dos dados de ensaios clínicos registados para mais de 3000 doentes e afirmaram que a administração oral de glucosamina foi moderadamente a altamente eficaz no tratamento da dor da osteoartrite, e não teve efeitos adversos sobre os parâmetros de sangue, urina ou fezes (Anderson *et al.*, 2005, *Food and Chemical Toxicology*, 43:187-201). Além disso, o artigo de revisão sumaria os resultados sobre

doses muito elevadas de glucosamina administradas oralmente a ratos, murganhos, coelhos, cães e cavalos, como descrito em cerca de 20 estudos em animais. A LD₅₀ foi estimada como excedendo 5000 mg/kg para ratos e 8000 mg/kg para murganhos e coelhos. A investigação também demonstrou que a ingestão de glucosamina em doses elevadas, variando de 300 a 2149 mg/kg de peso corporal, não tem qualquer efeito nos níveis de glucose no sangue em ratos, coelhos ou cães. Além disso, em cinquenta e quatro doentes em ambulatório com gonartrose, foi realizado um ensaio clínico duplamente cego com o objectivo de avaliar a eficácia e tolerância de glucosamina intra-articular em comparação com um placebo de NaCl a 0,9%. Cada doente recebeu uma injeção intra-articular por semana durante cinco semanas consecutivas. Dor, mobilidade activa e passiva da articulação, inchaço e sintomas de intolerância generalizada e local foram registados antes de iniciar o tratamento e quatro semanas após a última injeção. A glucosamina reduziu a dor numa extensão significativamente maior do que o placebo, e resultou em significativamente mais doentes sem dor. O ângulo de flexão da articulação aumentou substancialmente após o tratamento com glucosamina. A mobilidade activa aumentou com ambos os tratamentos, com uma tendência mais favorável após a administração de glucosamina. O inchaço do joelho não diminuiu significativamente depois da glucosamina, enquanto que se agravou (embora não significativamente) após o placebo. Não houve sintomas de intolerância local ou geral durante e após o tratamento.

A administração de glucosamina foi capaz de acelerar a recuperação de doentes artríticos, sem efeitos secundários resultantes, e de restaurar parcialmente a função articular. Além disso, a recuperação clínica não desapareceu depois de o tratamento ter terminado, mas durou no mês seguinte, pelo menos. Demonstrou-se portanto que a terapêutica com glucosamina merece um lugar seleccionado na gestão da osteoartrose (Vajjaradul *et al.*, 1981, *Clin. Ther.*, 3:336-343). O quitosano foi registado como GRAS (Geralmente Reconhecido como Seguro). A composição de quitosano e materiais foi extensamente analisada *in vitro* bem como *in vivo*, tanto em animais como em seres humanos. *In vitro*, as composições de quitosano foram testadas com várias linhas celulares, incluindo células Caco-2, HT29-H, CCRF-CEM (leucemia linfoblástica humana) e L132 (células de pulmão embrionário humano), células MCF7 e COS7 (Kean *et al.*, 2010, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 62:3-11; Richardson *et al.*, 1999, *Int. J. Pharm.*, 178:231-243; Schipper *et al.*, 1996, *Pharm. Res.*, 13:1686-1692; Schipper *et al.*, 1999, *Eur. J. Pharm. Sci.*, 8:335-343; e Zhang *et al.*, 2008, *Biomaterials*, 29:1233-1241).

In vivo, as composições de quitosano e os materiais foram testados em vários modelos animais e através de várias vias de administração. O quitosano foi estudado de forma segura em modelos de murganho (imunogenicidade), modelos de rato, modelos de cobaio e modelos de coelho (toxicidade subaguda). Não foram observados "efeitos tóxicos significativos" de quitosano em

ensaios de toxicidade aguda em murganhos, nem irritação do olho ou da pele em coelhos e cobaias, respectivamente. No mesmo estudo também foi concluído que o quitosano não era pirogénico. A exposição de mucosa nasal de rato a soluções de quitosano a 0,5% (p/v) durante 1 h não causou alterações significativas na morfologia das células da mucosa em comparação com o controlo. A partir da maioria dos estudos descritos parece que o quitosano apresenta efeitos tóxicos mínimos e isto justifica a sua selecção como um material seguro na administração de fármacos. Os sistemas de quitosano/ β -glicerofosfato foram investigados *in vitro*, *in vivo* em modelos animais e em seres humanos, e mostraram um perfil seguro e não tóxico (Hirano *et al.*, 1991, *Agric. Biol. Chem.*, 55:2623-2625; Ono *et al.*, 2000, *J. Biomed. Mater. Res.*, 49:289-295; Azad *et al.*, 2004, *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater.*, 69:216-222; Ishihara *et al.*, 2001, *Wound Repair Regen.*, 9:513-52; e Illum *et al.*, 1994, *Pharm. Res.* 11: 1186-1189).

Em seres humanos, um ensaio clínico de fase 2 envolvendo a injeção percutânea de complexo quitosano-¹⁶⁶hólmio, para o tratamento de carcinoma hepatocelular, em doentes com perspectivas cirúrgicas pobres, descreveu resultados seguros e eficazes. Os efeitos do quitosano foram investigados em oitenta doentes com insuficiência renal submetidos a tratamento de hemodiálise estável a longo prazo. Os doentes foram testados depois de um período de tratamento de controlo de 1 semana. A metade foram administrados 30 comprimidos de quitosano (45 mg de

quitosano/comprimido) três vezes por dia. A ingestão de quitosano reduziu realmente os níveis de colesterol sérico total (de $10,14 \pm 4,40$ para $5,82 \pm 2,19$ mM) e aumentou os níveis séricos de hemoglobina (de $58,2 \pm 12,1$ para $68 \pm 9,0$ g L⁻¹). Durante o período de tratamento, não foram observados sintomas clinicamente problemáticos. Os resultados sugerem que o quitosano pode ser um tratamento eficaz para doentes com insuficiência renal, embora o mecanismo do efeito deva ser adicionalmente investigado.

O quitosano também foi administrado intranasalmente para administrar morfina a doentes após cirurgia ortopédica, e demonstrou-se que oferece uma alternativa segura e menos invasiva à morfina intravenosa (IV). Um estudo clínico e farmacocinético para um sistema de administração de fármacos (DDS) da barra de quitosano carregada com gentamicina foram realizados com a finalidade de avaliar a sua eficácia e apresentar mais dados para as suas aplicações clínicas. Dezoito (18) casos de osteomielite crónica foram tratados por necrectomia cirúrgica com implantação da barra de quitosano carregada com gentamicina na cavidade óssea preparada. Todos os 18 casos foram acompanhados durante 24,8 meses (numa gama de 6-34 meses) 16 doentes receberam cura inicial e sem qualquer recorrência. Assim, pode concluir-se que o DDS de quitosano carregado com gentamicina foi um método simples e eficaz para o tratamento de osteomielite crónica sem necessidade de realizar uma segunda operação para remover o transportador do fármaco.

Na China, em 12 doentes, observou-se que o quitosano preveniu ou reduziu de forma segura adesões do cotovelo após artrólise do cotovelo. Foi investigado novamente em seres humanos para impedir adesões do joelho na sequência de operação à rótula (Kim *et al.*, 2006, *Clin. Cancer Res.*, 12:543-548; Jing *et al.*, 1997, *J. Pharm. Pharmacol.*, 49(7):721-723; Stoker *et al.*, 2008, *Pain Med.*, 9:3-12; e Chen *et al.*, 1998, *Chinese Journal of Reparative and Reconstructive Surgery*, 12:355-358).

Vários ensaios clínicos envolvendo composições ou materiais de quitosano para fins de administração de fármacos ou implantes médicos estão em curso (recrutamento) ou terminados nos Estados Unidos. Os materiais de quitosano são, ou foram, estudados clinicamente em doentes para a gestão de epistaxe espontânea difícil e avaliar o seu efeito curativo na mucosa nasal, para investigar a segurança e eficácia da hemostasia do curativo para uso em procedimentos cirúrgicos dentários, para testar uma compressa de quitosano após angiografia coronária percutânea diagnóstica como adjuvante da compressão manual para melhor controlo do sangramento do sítio de acesso vascular e reduzir o tempo até hemostasia, para investigar uma composição de quitosano como um desbridamento seguro e eficaz de feridas crónicas na sala de operações e ambientes de enfermarias de internamento e para minimizar a recolonização bacteriana de feridas, para investigar os benefícios terapêuticos da utilização de uma composição de

quitosano para a reparação de feridas de úlceras nos pés neuropáticas diabéticas, para comparar a eficácia de uma composição de quitosano em comparação com o tratamento convencional no tratamento de úlcera no pé neuropático diabético, para investigar um novo derivado de quitosano para reduzir os sintomas associados à síndrome do olho seco, e para investigar se o tratamento de cartilagem danificada no joelho com uma composição de quitosano vai aumentar a quantidade e a qualidade do tecido de reparação de cartilagem em comparação com microfractura sozinha. Além disso, os materiais de quitosano são, ou foram, estudados clinicamente em doentes para determinar se o quitosano, um quitosano de cadeia curta com um peso molecular de 40 kDa, é seguro e eficaz na redução dos níveis de colesterol de LDL em doentes com níveis de colesterol pouco a moderadamente elevados (fármaco) e comparar a segurança e imunogenicidade de dois níveis de dosagem de vacina de partículas semelhantes ao vírus Norwalk com adjuvante/excipientes de quitosano.

É também aqui descrita a preparação de soluções de quitosano termogelificantes altamente biocompatíveis utilizando glucosamina-6-fosfato de ocorrência natural em solução ou em forma sólida. O glucosamina-6-fosfato é o produto intermediário na via que conduz à biossíntese natural de glucosamina, reconhecido como o precursor bioquímico de todos os açúcares que contêm azoto (Roseman, 2001, *J. Biol. Chem.*, 276:41527-41542), que são constituintes importantes das glicoproteínas e oligossacáridos envol-

vidos no reconhecimento biológico. Especificamente, o glucosamina-6-fosfato é sintetizado a partir de 6-fosfato de frutose e glutamina (Ghosh *et al.*, 1960, *J. Biol. Chem.*, 235:1265-1273) como o primeiro passo da via de biossíntese das hexosaminas. O produto final desta via é difosfato de uridina N-acetilglucosamina ou UDP-GlcNAc, um açúcar de nucleotido utilizado depois para produzir glucosaminoglicanos, proteoglicanos e glicolípidos.

É aqui concebido que qualquer amino-açúcar fosforilado pode ser utilizado como aqui descrito acima. Além disso, contrariamente à patente U.S. N° 6344488, cujo teor aqui é dado como incorporado por citação, que ensina a utilização de monofosfato de polióis e açúcares fosforilados (polióis e açúcares fosforilados), qualquer pessoa com conhecimentos correntes na arte vai fazer a distinção de que a presente descrição é dirigida à utilização de amino-açúcares o que é diferente de açúcares e/ou polióis.

Açúcar refere-se a vários hidratos de carbono, como monossacáridos, dissacáridos ou oligossacáridos. Os monossacáridos também são chamados "açúcares simples", tendo a fórmula $C_nH_{2n}O_n$, em que n está entre 3 e 7. Glucose, que tem a fórmula molecular $C_6H_{12}O_6$, é o monossacárido mais importante. Os hidratos de carbono são realmente apenas poli-hidroxi-aldeídos, chamados aldoses, ou poli-hidroxi-cetonas, chamados cetoses, enquanto os polióis são simplesmente álcoois contendo múltiplos grupos hidroxilo. As composições de quitosano descritas na arte, como na

patente U.S. N° 6344488, abrangeram açúcares que são monossacáridos como monofosfato de açúcares dibásicos, monossulfato de açúcares e açúcares monocarboxílicos.

Um amino-açúcar como aqui abrangido é um açúcar onde um grupo hidroxilo está substituído com um grupo amina. Os derivados de açúcares contendo amina, como N-acetilglucosamina, embora que não contenha formalmente uma amina, também são considerados amino-açúcares.

A fosforilação é a adição de produtos químicos de um grupo fosfato (PO_4) a uma proteína, açúcar ou outra molécula orgânica. Tal como aqui utilizado, glucosamina-6-fosfato refere-se à glucosamina fosforilado no carbono 6.

Tal como aqui utilizada, "solução de carbonato de amino-açúcar" ou "solução de fosfato de amino-açúcar" refere-se a uma solução contendo amino-açúcar carregado positivamente ($+\text{NH}_3$ -açúcar) entre os contra-íons necessários para equilibrar a carga negativa CO_3^{2-} e PO_4^{3-} , de modo que a carga total é zero.

Tal como aqui utilizada, "solução de amino-açúcar fosforilado" refere-se a uma solução em que o ião carregado negativamente é o fosfato do amino-açúcar (amino-açúcar-O- PO_3^{2-}).

O termo "temperatura de gelificação" pretende significar qualquer temperatura na gama de cerca de 25°C a

cerca de 70°C, preferencialmente entre 37°C e cerca de 60°C, e mais preferencialmente a cerca da temperatura fisiológica ou 37°C.

A expressão "gelificação *in situ*" refere-se aqui à formação de geles na sequência da injeção da solução de quitosano líquida, tal como aqui ensinado, dentro de sítios específicos dos ambientes de mamíferos ou seres humanos, e.g. quaisquer tecidos (músculos, osso, ligamentos, cartilagens) e órgãos. A gelificação *in situ* permite o enchimento completo e preciso de defeitos de tecidos ou cavidades corporais. A gelificação da mistura de quitosano é induzida pela temperatura fisiológica.

Um gel de quitosano tal como aqui ensinado é um material ideal para um sistema de administração de fármacos. Esse veículo que forma um tipo de gel *in situ*, em que um aditivo em partículas sólidas ou solúvel em água é incorporado antes da gelificação, pode ser administrado topicamente, directamente no sítio do corpo a ser tratado ou diagnosticado. Agentes antibacterianos, antifúngicos, anti-inflamatórios esteróides ou não esteróides, anti-cancro, antifibrose, antiviral, antiglucoma, miótico e anticolinérgico, antipsicótico, anti-histamínico e descongestionante, anestésico e anti-parasitários podem ser incorporados no seio da composição e gel. De um modo semelhante, polipéptidos ou agentes farmacêuticos não vivos podem ser incorporados no seio da composição ou gel para efeitos restauradores, reconstrutivos ou regenerativos.

A presente descrição será mais prontamente compreendida por referência aos exemplos seguintes que são apresentados para ilustrar formas de realização, mas não para limitar o seu âmbito.

EXEMPLO I

Preparação de uma mistura de quitosano-solução tampão

1. Preparação da solução de quitosano

Foi preparada uma solução de quitosano (2,00% p/v) por dissolução de quitosano de qualidade medicinal, tendo peso molecular médio, em solução aquosa de HCl. A proporção de HCl em comparação com o grupo amino (NH₂) do quitosano, referido como o grau de protonação do quitosano em solução, foi mantido a 70%. A solução foi esterilizada utilizando uma autoclave durante 30 minutos a 121°C. Após arrefecimento, a água perdida devido ao processo de autoclavagem foi compensada por adição de água estéril em ambiente asséptico controlado. A solução foi então filtrada assepticamente através de uma frita de metal, dividida em alíquotas de 5,0 mL e armazenada a 4°C. Uma alíquota adicional de cerca de 3 mL foi utilizada para medir o pH da solução de quitosano. As características de soluções de 100 mL preparadas utilizando quitosano tendo DDA de cerca de 80% e 98% estão sumariadas na Tabela 1.

Tabela 1

Características da solução de quitosano (100 mL)

DDA do Quitosano (%)	m(g)	H ₂ O (mL)	HCl 1 M (mL)	pH
80	2,0566	93,20	6,80	5,51
98	2,0586	91,26	8,74	5,50

2. Preparação das soluções tampão

A solução tampão de carbonato de glucosamina foi obtida por co-dissolução simultaneamente de cloridrato de glucosamina e carbonato de sódio em água, enquanto que a solução tampão de fosfato de glucosamina foi preparada por dissolução simultaneamente de cloridrato de glucosamina e fosfato de potássio tribásico. As quantidades de sal utilizadas para a preparação de 50 mL de cada solução tampão estão sumariadas na Tabela 2. Geralmente, o pH da solução tampão é mantido entre 7,60 e 8,00 para o carbonato de glucosamina e entre 8,10 e 8,50 para o fosfato de glucosamina.

Para a estabilidade no longo prazo, as soluções tampão de carbonato de glucosamina e fosfato de glucosamina devem ser armazenadas a uma temperatura muito baixa, abaixo de -20°C, preferencialmente -80°C. Isto pode evitar ou interromper uma provável reacção semelhante à de Maillard, que foi suspeita de estar a causar a degradação, revelada pela coloração acastanhada das soluções tampão quando

armazenadas a temperaturas acima de 0°C. Tecnicamente, para resolver este problema, as soluções tampão de carbonato de glucosamina e fosfato de glucosamina podem ser preparadas no momento da utilização por mistura de um volume de solução duplamente concentrada de cloreto de glucosamina com um mesmo volume de solução duplamente concentrada de sais carbonato ou por mistura de um volume de solução duplamente concentrada de glucosamina com um mesmo volume de solução duplamente concentrada de sais fosfato, respectivamente. Estas soluções, nomeadamente solução de cloreto de glucosamina, solução de carbonato ou solução de fosfato, preparadas separadamente, podem ser armazenadas a 4°C durante pelo menos mais de 6 meses. A esta temperatura, não ocorre degradação em soluções aquosas ácidas de cloridrato de glucosamina, enquanto as soluções aquosas de sais carbonato ou fosfato são muito estáveis.

Tabela 2

Quantidades de sal utilizadas para a solução tampão

Componentes	Solução tampão (50 mL)	
	Carbonato de glucosamina	Fosfato de glucosamina
Glucosamina-HCl (g)	8,9808	8,9858
Na ₂ CO ₃ (g)	2,9704	-
K ₃ PO ₄ (g)	-	5,3562
pH	7,68	8,39

3. Preparação de soluções termogelificantes utilizando carbonato de glucosamina

I. DDA do quitosano = 80%

A solução termogelificante foi preparada por mistura vigorosa de 5,00 mL de solução de quitosano com 0,56 mL de uma solução tampão de carbonato de glucosamina, enquanto se mantinha a temperatura a cerca de 15°C. A solução resultante tendo um pH de cerca de 6,82 foi depois vertida num tubo de ensaio e incubada a 37°C, onde gelificou dentro de aproximadamente 10 minutos.

Numa segunda experiência, 5,00 mL de solução de quitosano foram misturados com agitação forte com 0,50 mL de solução de carbonato de glucosamina, enquanto se mantinha a temperatura a cerca de 15°C. A solução resultante tendo um valor do pH de cerca de 6,75, gelificou dentro de 20 minutos a 45°C.

II. DDA do Quitosano = 98%

A solução termogelificante foi preparada por mistura vigorosa de 5,00 mL de solução de quitosano com 0,50 mL de solução tampão de carbonato de glucosamina, enquanto se mantinha a temperatura a cerca de 15°C. A solução resultante tendo um pH de cerca de 6,8 foi depois vertida num tubo de ensaio e incubada a 37°C, onde gelificou dentro de aproximadamente 1 minuto.

Numa segunda experiência, 5,0 mL da solução de quitosano foram misturados com agitação forte com 0,40 mL de solução de carbonato de glucosamina, enquanto se mantinha a temperatura a cerca de 15°C. A solução resultante tendo um valor de pH de cerca de 6,7, gelificou dentro de 20 minutos a 45°C. A dependência da temperatura do módulo de elasticidade (G') e do módulo viscoso (G'') desta última solução está apresentada na Figura 1.

4. Preparação de soluções termogelificantes utilizando fosfato de glucosamina

I. DDA do quitosano = 80%

A solução termogelificante foi preparada por mistura com agitação vigorosa de 5,00 mL de solução de quitosano com 0,60 mL de solução de fosfato de glucosamina, enquanto se mantinha a temperatura a cerca de 15°C. A solução resultante tendo um pH de cerca de 7,02 foi depois vertida num tubo de ensaio e incubada a 37°C, onde gelificou dentro de cerca de 7 minutos.

Numa segunda experiência, 5,00 mL de solução de quitosano foram misturados com agitação vigorosa com 0,50 mL de solução de fosfato de glucosamina, enquanto se mantinha a temperatura a cerca de 15°C. A solução resultante tendo um valor de pH de cerca de 6,81, gelificou dentro de 30 minutos a 45°C.

No entanto, a composição termogelificante aqui descrita não pode ser obtida nem por utilização de solução de cloridrato de glucosamina, nem por utilização de solução de glucosamina livre. Como o pH de 3,11 medido para uma solução 0,55 M de cloridrato de glucosamina é muito mais baixo do que o da solução de quitosano, o pH da mistura não excede um valor de 5,50. Essas misturas permanecem líquidas em toda a gama de temperatura, de 0 a 80°C. Em contraste, a utilização da solução de glucosamina livre, com um pH de 7,71 e 8,03, aumenta o pH da mistura, mas ocorreu uma precipitação substancial de quitosano logo que foi atingido um valor de pH entre 6,2 e 6,4.

Além disso, não pode ser utilizada uma solução de Na_2CO_3 para preparar a composição termogelificante aqui descrita. Quando adicionada à solução de quitosano, a alcalinidade relativamente forte dessa solução de carbonato de (0,373 M), pH de cerca de 11,5, causa a precipitação instantânea do quitosano. Foram então utilizados ácidos, incluindo mas não limitados a ácidos orgânicos, como ácido glutâmico e ácido pirúvico, para amaciar a alcalinidade da solução de carbonato e proporcionar assim uma solução tampão para a composição termogelificante aqui descrita. No entanto, verificou-se que estas soluções tampão são menos eficazes do que a solução tampão de carbonato de glucosamina. A Tabela 3 mostra as quantidades necessárias para a preparação de soluções glutâmico-carbonato com valores de pH de 7,65 e 7,85. As composições resultantes da

mistura de 5,00 mL de solução de quitosano (DDA = 98%) com 0,50 mL de solução 1, e com 0,50 mL de solução 2, tinham respectivamente um valor de pH de 6,31 e 6,56.

Tabela 3

Quantidades necessárias para a preparação de soluções
glutâmico-carbonato

Glutâmico-carbonato (50 mL)	Ácido glutâmico (g)	Na ₂ CO ₃ (g)	pH
Solução 1	4,5675	3,2875	7,65
Solução 2	6,6525	4,9965	7,85

EXEMPLO II

**Preparação de uma solução de quitosano termogelificante
utilizando glucosamina-6-fosfato**

Foi preparada uma solução de quitosano (~2,0% p/v) como descrito acima no Exemplo I. A solução termogelificante foi preparado por mistura de 5,0 mL de solução de quitosano refrigerada com 0,5 mL de solução de sal dissódico de glucosamina-6-fosfato (1 M) refrigerada em banho de gelo (~ 4°C) e com agitação vigorosa. A solução resultante tendo um pH de cerca de 7,0 foi então retirada do banho de gelo e colocada a 37°C, onde gelificou dentro de 15 minutos.

EXEMPLO III**Procedimentos terapêuticos com composição termogelificante
dupla**

A composição aqui descrita pode ser utilizada para procedimentos terapêuticos minimamente invasivos, em particular em tecidos músculo-esqueléticos como a cartilagem articular, fibrocartilagem e osso, para citar apenas alguns deles. A composição aqui descrita é particularmente adequada para o tratamento de lesões da cartilagem articular, e tem sido clinicamente aplicada em doentes que sofrem de defeitos da cartilagem articular. Esta composição foi aplicada por especialistas ortopédicos, ao abrigo de um protocolo clínico e no âmbito do Programa de Acesso Especial (SAP) da Health Canada, para tratar defeitos da cartilagem articular em articulações do joelho de doentes que sofrem lesões da cartilagem do joelho, dor na articulação do joelho e funcionalidades reduzidas das articulações.

Um total de 9 doentes, com idade de 18 a 70 anos, tendo estruturas dos ligamentos do joelho intactas e sofrendo de lesões da cartilagem sintomáticas de um compartimento, com as lesões da cartilagem a serem investigadas por imagiologia de ressonância magnética (MRI), foram tratados no Canadá. Todos os doentes foram tratados artroscopicamente com o desbridamento da cartilagem articular não aderente e a composição foi administrada artroscopicamente para encher e cobrir os defeitos

da cartilagem. Os defeitos da cartilagem tratados com a composição tinham até 3 cm x 3 cm de área de superfície. A composição actua principalmente para preencher defeitos da cartilagem articular e revestir as superfícies da cartilagem lesionadas na articulação. A composição administrada nos joelhos de doentes provou ser segura, não tóxica e fácil de preparar e de administrar. Com um acompanhamento de 8 a 9 meses de pós-operatório, todos os doentes tratados com a composição mostraram resultados clínicos positivos claro com início às 3 a 6 meses de pós-operatório, consistindo esses resultados clínicos positivos principalmente numa redução significativa da dor na articulação do joelho e funcionalidade na articulação do joelho e nível de actividade global do doente melhorados. A avaliação clínica foi realizada utilizando pontuação e questionário do tipo WOMAC (*Western Ontario and McMaster Universities Osteoarthritis Index*). A composição proposta para o tratamento de lesões da cartilagem articular pode ser utilizada para o tratamento de defeitos da cartilagem em articulações do corpo, para o joelho e outras articulações, especialmente na anca e tornozelo.

O tratamento com a composição aqui descrita é realizado no decurso de uma artroscopia do joelho. É feito juntamente com uma lavagem e desbridamento e pode ser associado a uma técnica de estimulação da medula óssea (microfractura). A composição pode ser aplicada directamente na lesão da cartilagem articular.

A composição aqui descrita é preparada com

facilidade e rapidamente no decurso de um procedimento de artroscopia do joelho. Além disso, uma vez que pode ser administrada como um injectável, é vantajosamente muito facilmente administrada através de uma artroscopia e não prolonga significativamente a duração dos procedimentos artroscópicos.

O tratamento da lesão da cartilagem articular com a composição aqui descrita reduziu a dor nas articulações do joelho e melhorou as funções das articulações do joelho, proporcionando assim funcionalidades articulares e nível de actividade global melhorados para os doentes tratados. Estes efeitos vantajosos devem ocorrer tão cedo como 3 meses pós-artroscopia. Este tratamento pode adiar tratamentos protéticos mais agressivos e dispendiosos da lesão da cartilagem articular.

Embora a descrição tenha sido feita em relação a formas de realização específicas suas, entender-se-á que é susceptível de outras modificações e este pedido pretende abranger quaisquer variações, utilizações ou adaptações da descrição seguindo, em geral, os princípios da descrição e incluindo afastamentos da presente descrição como os da prática conhecida ou habitual na arte à qual a descrição diz respeito, e que podem ser aplicadas às características essenciais aqui anteriormente descritas, e como segue no âmbito das reivindicações anexas.

REIVINDICAÇÕES

1. Composição termogelificante biocompatível compreendendo:

a) uma solução de quitosano; e

b) uma solução tampão consistindo numa solução de carbonato de amino-açúcar, numa solução de fosfato de amino-açúcar ou numa solução de amino-açúcar fosforilado;

em que a composição é biocompatível, isotónica e se transforma em gel com o tempo ou por abaixamento ou aumento da temperatura.

2. Composição termogelificante biocompatível de acordo com a reivindicação 1, formando a referida composição um gel quando aquecida a uma gama de temperaturas entre cerca de 25°C e cerca de 60°C, ou arrefecida a uma gama de temperaturas entre cerca de 8°C e cerca de 1°C.

3. Composição termogelificante biocompatível de acordo com as reivindicações 1 ou 2, em que a referida solução tampão é uma solução de carbonato de glucosamina, uma solução de fosfato de glucosamina ou um solução de glucosamina-6-fosfato.

4. Composição termogelificante biocompatível de acordo com qualquer das reivindicações 1 a 3, em que a

referida composição termogelificante tem um pH entre 6,7 e 7,2 e transforma-se num gel quando aquecida até uma temperatura de 37°C.

5. Composição termogelificante biocompatível de acordo com qualquer das reivindicações 1 a 4, em que a concentração de quitosano está na gama de 0,1% a 5,0% e preferencialmente de 1,0% a 3,0%.

6. Composição termogelificante biocompatível de acordo com a reivindicação 3, em que a concentração de carbonato de glucosamina, fosfato de glucosamina ou glucosamina-6-fosfato está na gama de 0,002 M a 0,100 M.

7. Composição termogelificante biocompatível de acordo com as reivindicações 3 ou 6, em que a proporção de quitosano para carbonato de glucosamina, fosfato de glucosamina ou glucosamina-6-fosfato está entre 1 e 3.

8. Composição termogelificante biocompatível de acordo com qualquer das reivindicações 1 a 7, em que o referido quitosano tem um grau de desacetilação (DDA) na gama entre 70% e 100% e um peso molecular (Mw) na gama de 50 kDa a 1000 kDa.

9. Composição termogelificante biocompatível de acordo com a reivindicação 8, em que o referido quitosano tem um DDA de 80% a 99%, e um Mw de 200 kDa a 500 kDa.

10. Composição termogelificante biocompatível de acordo com qualquer das reivindicações 1 a 9, em que a osmolaridade da referida composição está entre 270 mOsmol/kg e 340 mOsmol/kg.

11. Composição termogelificante biocompatível de acordo com qualquer das reivindicações 1 a 10, compreendendo ainda pelo menos um material seleccionado do grupo que consiste em células, células estaminais, péptidos, factores de crescimento, sangue humano, plasma rico em plaquetas, nucleotidos, osso, materiais derivados de osso, fosfatos de cálcio, carbonatos de cálcio, biovidros, cerâmicos, fármacos e agentes de imagiologia.

12. Composição termogelificante biocompatível de acordo com qualquer das reivindicações 1 a 11, em que a referida composição é para utilização no tratamento, reparação, regeneração, reconstituição ou substituição, total ou parcial, de um tecido ou órgão dentro do corpo de um mamífero ou ser humano.

13. Composição termogelificante biocompatível de acordo com a reivindicação 12, em que o tecido ou órgão compreende cartilagem articular, fibrocartilagem, menisco, discos intervertebrais, tecidos ósseos, tecidos musculares, tecidos moles de nervos e medula espinal, pele ou tecidos dérmicos.

14. Composição termogelificante biocompatível de acordo com a reivindicação 12, em que a composição é para utilização em injeção intra-articular para tratar ou melhorar funções articulares corporais ou para repara defeitos da cartilagem.

15. Composição termogelificante biocompatível de acordo com a reivindicação 11, em que pelo menos um material ou composto é partículas de fosfato de cálcio numa concentração compreendida entre 1,0% e 40,0% e a referida composição é para utilização no tratamento, enchimento ou reparação de osso ou defeitos ósseos no decurso de uma cirurgia dentária, maxilo-facial, espinal ou ortopédica ou de um procedimento traumatológico.

Lisboa, 5 de novembro de 2015

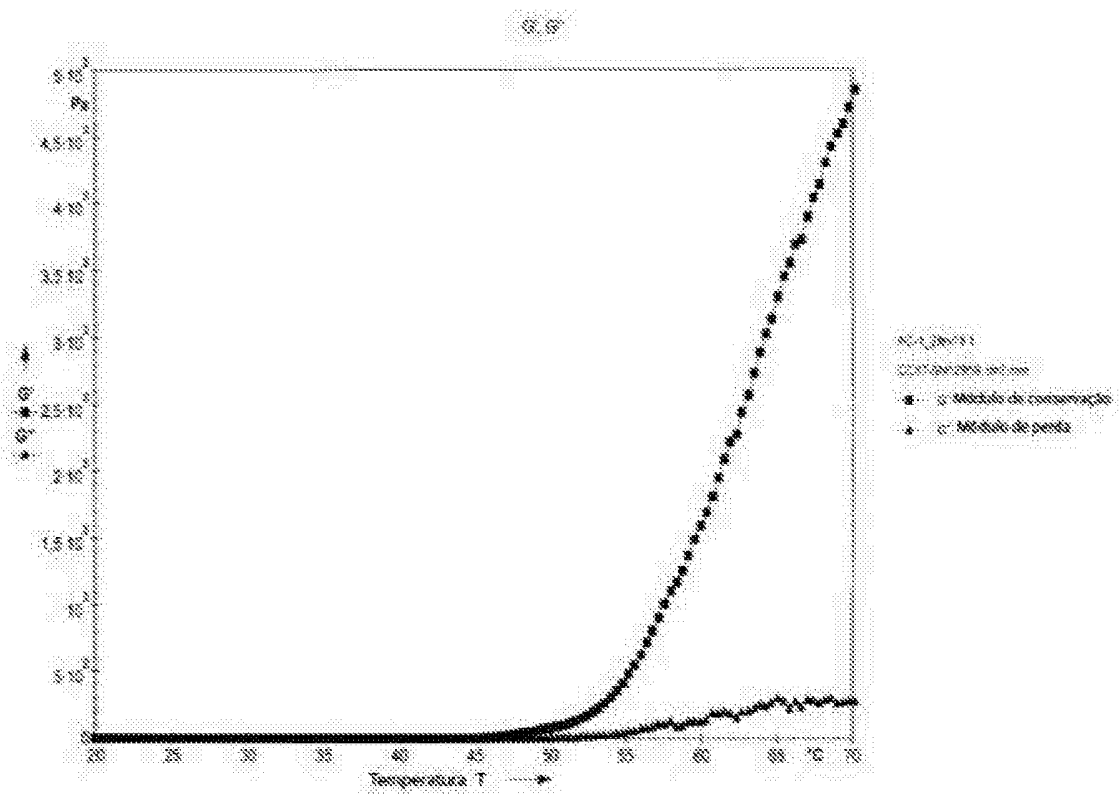


Figura 1

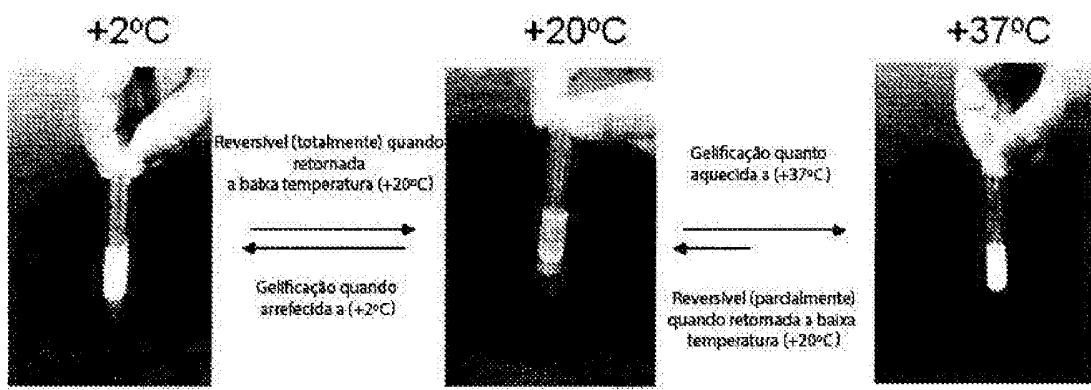


Figura 2

REFERÊNCIAS CITADAS NA DESCRIÇÃO

Esta lista de referências citadas pelo requerente é apenas para conveniência do leitor. A mesma não faz parte do documento da patente europeia. Ainda que tenha sido tomado o devido cuidado ao compilar as referências, podem não estar excluídos erros ou omissões e o IEP declina quaisquer responsabilidades a esse respeito.

Documentos de patentes citadas na Descrição

- * US 4572006 A
- * US 4996350 A
- * US 5894070 A
- * US 5902798 A
- * US 6124273 A
- * WO 08221114 A
- * US 4532134 A
- * US 5773033 A
- * US 6344488 B
- * US 20090202430 A
- * US 7148209 B
- * US 20100178365 A
- * US 20090270514 A
- * US 20100113818 A
- * US 20090004230 A
- * WO 0200272 A2

Literatura que não é de patentes citada na Descrição

- * CHENITE et al. *Biomaterials*, 2000, vol. 21, 2155-2161
- * CHENITE et al. *Carbohydrate Polymers*, 2001, vol. 46, 39-47
- * CROMPTON et al. *Biomaterials*, 2007, vol. 28, 441-449
- * HOEMANN et al. *Osteoarthritic Cartilage*, 2005, vol. 13, 318-329
- * LIU et al. *Int. J. Pharm.*, 2011, vol. 414, 6-15
- * SCROGGIE et al. *Archives of Internal Medicine*, 2003, vol. 163, 1587-1590
- * POLIWELS et al. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2001, vol. 86, 2099-2103
- * MONAUNI et al. *Diabetes*, 2000, vol. 49, 926-935
- * ANDERSON et al. *Food and Chemical Toxicology*, 2006, vol. 43, 187-201
- * VAJARAOUL et al. *Clin. Ther.*, 1991, vol. 3, 336-343
- * KEAN et al. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2010, vol. 62, 3-11
- * RICHARDSON et al. *Int. J. Pharm.*, 1999, vol. 178, 231-243
- * SCHIPPER et al. *Pharm. Res.*, 1996, vol. 13, 1686-1692
- * SCHIPPER et al. *Eur. J. Pharm. Sci.*, 1999, vol. 8, 335-343
- * ZHANG et al. *Biomaterials*, 2008, vol. 29, 1233-1241
- * HIRANO et al. *Agric. Biol. Chem.*, 1991, vol. 55, 2623-2625
- * ONO et al. *J. Biomed. Mater. Res.*, 2000, vol. 49, 289-295
- * AZAD et al. *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater.*, 2004, vol. 69, 216-222
- * ISHIHARA et al. *Wound Repair Regen.*, 2001, vol. 9, 513-52
- * ILLUM et al. *Pharm. Res.*, 1994, vol. 11, 1186-1189
- * KIM et al. *Clin. Cancer Res.*, 2006, vol. 12, 543-548
- * JING et al. *J. Pharm. Pharmacol.*, 1997, vol. 49 (7), 721-723
- * STOKER et al. *Pain Med.*, 2008, vol. 9, 3-12
- * CHEN et al. *Chinese Journal of Reparative and Reconstructive Surgery*, 1998, vol. 12, 355-358
- * ROSEMAN. *J. Biol. Chem.*, 2001, vol. 276, 41527-41542
- * GHOSH et al. *J. Biol. Chem.*, 1960, vol. 235, 1265-1273